



TITLE:

Ptf1a inactivation in adult pancreatic acinar cells causes apoptosis through activation of the endoplasmic reticulum stress pathway(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Sakikubo, Morito

CITATION:

Sakikubo, Morito. Ptf1a inactivation in adult pancreatic acinar cells causes apoptosis through activation of the endoplasmic reticulum stress pathway. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13235>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	崎久保 守人
論文題目	<i>Ptfla</i> inactivation in adult pancreatic acinar cells causes apoptosis through activation of the endoplasmic reticulum stress pathway (成体の膵腺房細胞において <i>Ptfla</i> を失活させると小胞体ストレス経路の活性化を通じてアポトーシスを生じる)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景・目的】胎生期原腸から十二指腸・胆管・膵臓への分化において、転写因子 <i>Ptfla</i> は膵臓への運命決定遺伝子として機能する。<i>Ptfla</i> 低発現マウスでは <i>Ptfla</i> 低発現細胞の一部が十二指腸や胆管の細胞になることから、膵臓へ分化には <i>Ptfla</i> 発現量が一定の域値を超えることが必要であると考えられている。一方、成体膵臓では <i>Ptfla</i> は腺房細胞に発現し、アミラーゼなどの外分泌酵素の転写調節を行なっていること、<i>Ptfla</i> heterozygote は細胞増殖が亢進していることなど少しの知見しか得られていない。本研究では、成体膵臓における <i>Ptfla</i> の機能解明を目的とし、Tamoxifen 誘導性 Cre を用いた腺房細胞特異的ノックアウトマウスの解析を行った。【方法・結果】成体 <i>Elastase-CreERTM; Ptfla^{flox/flox}</i> (Ptfla cKO)マウスに Tamoxifen を投与したところ、わずか10日間のうちに膵組織量が著明に低下し、膵重量／体重比は <i>Elastase-CreERTM; Ptfla^{+/+}</i> (control)マウスの約 1/3 減となった。ROSA26 レポーターマウスとの交配で lineage tracing を加えたところ、Tamoxifen 投与 3 日目の組織解析で <i>Ptfla</i> ノックアウト細胞の一部は腺房細胞の形態を喪失し膵管細胞様異形成を示していたが、大部分はアポトーシスに陥っていることが確認された。周囲に残存する <i>Ptfla</i> 保持細胞の増殖が賦活化されていたが、急激なアポトーシスによる細胞喪失を補填するには至らず、結果的に膵重量が低下したと考えられた。同時期の電子顕微鏡観察では明らかな小胞体拡張を認め、小胞体ストレスの存在が示唆された。そこで、小胞体ストレス反応に関わる 3 つの経路について解析を加えた。その結果、RT-PCR による <i>Xbp1</i> mRNA の splicing 評価で IRE1 経路は抑制されている一方、Western blot による ATF6 の cleavage 評価で ATF6 経路が活性化していることが分かった。また、免疫組織蛍光染色評価により ATF4 の発現が観察され、PERK-eIF2α-ATF4 経路は活性化していると考えられた。さらに、ATF6 経路と PERK-eIF2α-ATF4 経路の下流にある pro-apoptotic マーカー：CHOP の発現が確認された。上記小胞体ストレス反応は Tamoxifen 投与 3 日目に認められたが、10日目には消退していた。【考察】以上の結果より、<i>Ptfla</i> は成体膵腺房細胞の維持に必須の遺伝子であると結論される。本研究では、<i>Ptfla</i> homozygote からタモキシフェン投与により <i>Ptfla</i> null とする conditional knockout を行なったが、<i>Ptfla</i> heterozygote から <i>Ptfla</i> null とする既報がある。同論文でも膵重量低下を認めるが、その主因を <i>Ptfla</i> ノックアウト細胞の膵管細胞様異形成に求めており、明らかなアポトーシスを示していない。本研究でも膵管細胞様異形成は確認されたが、その割合はわずか 2.5%に止まり、膵重量／体重比の 1/3 減を説明することはできない。本論文と既報論文のフェノタイプの違いの理由として、<i>Ptfla</i> homozygote からの conditional knockout では、既報に比べてより急激な <i>Ptfla</i> 発現量の低下を来し、その結果として惹起された極度の細胞ストレスが小胞体ストレス反応で回復できずに apoptosis に陥ったと考えられる。</p>			

<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>転写因子 <i>Ptfla</i> は胎生期原腸から十二指腸・胆管・膵臓への分化において、膵臓への運命決定遺伝子として機能する。学位申請者は、Tamoxifen 誘導性 Cre を用いた腺房細胞特異的 <i>Ptfla</i> ノックアウトマウスを作成し、これまで十分解明されていない成体膵における <i>Ptfla</i> の機能解明を目指した。Tamoxifen 投与3日目の組織解析で <i>Ptfla</i> ノックアウト細胞の大多数がアポトーシスに陥り、膵重量/体重比が約 1/3 減少する事を見出した。電子顕微鏡による小胞体拡張像から小胞体ストレス反応について解析を加えたところ、IRE1 経路の抑制、ATF6 経路および PERK-eIF2α-ATF4 経路の活性化と pro-apoptotic マーカー：CHOP の発現が確認された。一方、<i>Ptfla</i> heterozygote から <i>Ptfla</i> null とする既報では明らかなアポトーシスを示さなかった点に関し、本実験で行った <i>Ptfla</i> homozygote からの conditional knockout は、より急激な <i>Ptfla</i> 発現量の低下を来し、惹起された極度の細胞ストレスが小胞体ストレス反応で回復できずにアポトーシスに陥ったと考察した。</p> <p>以上の研究は <i>Ptfla</i> が成体膵腺房細胞の維持に必須である事を示し、<i>Ptfla</i> 欠失によって引き起こされる小胞体ストレス反応の変化に関する新たな知見を提供しており、膵臓の生理学に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成31年2月26日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日以降			